DNA 甲基化与去甲基化调控肌肉发育研究进展

王　波　罗海玲*

（中国农业大学动物科技学院，动物营养学国家重点实验室，北京 100193）

摘　要：肌肉发育是一个复杂的生物学过程，其调控机制尚不完善。但近年来表观遗传修饰对肌肉发育的调控作用逐渐成为热点领域，研究发现 DNA 甲基化与去甲基化修饰对肌肉发生与发育起到重要的调控作用。肌肉干细胞特异位点通过 DNA 甲基化修饰，影响肌肉发育过程关键基因的表达，进而调控早期发育的生肌过程。本文主要围绕肌肉发育过程中 DNA 甲基化及去甲基化修饰的变化，重要的甲基转移酶和去甲基化酶，以及营养物质通过 DNA 甲基化修饰影响肌肉发生的作用进行论述。

关键词：DNA 甲基化；去甲基化；肌肉发生；酶；营养物质

中图分类号：S811

随着表观遗传学的发展，目前已经出现对应的表观基因组。表观基因组的遗传修饰机制主要包括DNA甲基化[1]、组蛋白修饰[2-3]和非编码RNA[4]三大部分。1975年发现的DNA甲基化作为一种表观遗传修饰方式[5-6]，是目前表观遗传修饰机制中研究最多且最深入的。DNA甲基化修饰即将甲基供体提供的甲基，通过共价键链接到胞嘧啶核苷酸的5号碳原子上，形成5－甲基胞嘧啶（5-methylcytosine,5mC），并且这种修饰在植物、动物及真菌模型上均能够较稳定的存在[7]。在动物模型中，这种修饰通常发生在DNA链的CpG丰富且对称的区域，这个区域通常被称为CpG岛，CpG岛大部分存在于管家基因和发育基因的启动子区域[8]。而该区域的DNA甲基化则会通过甲基CpG结合区域蛋白阻碍转录因子和RNA聚合酶与模板链的结合，进而抑制转录过程[9]，影响相应区域的基因表达水平，最终引起机体相应生物学功能发生改变。

肌肉组织作为构成机体的重要组成部分，其发育过程也受到DNA甲基化水平的调控。肌肉组织是由中胚层的祖细胞通过增殖、分化、融合以及成熟，最终形成骨骼肌纤维，这个过程也被称为肌肉发生。Brunk等[10]研究证实，肌分化因子*MyoD*基因的表达活性依赖于DNA的去甲基化状态，首次直接建立了DNA甲基化与肌肉细胞分化的联系。随后关于DNA甲基化在转录水平调控肌肉发生过程的研究也引起了众多学者的兴趣，使得肌肉发生过程中关键基因的修饰状态、关键的调控酶逐渐清晰。而且随着人们对营养学的重视，发现营养物质也

收稿日期：2017－01－17
基金项目：国家肉羊产业技术体系（CARS-39）
作者简介：王波（1989－），男，河南新县人，博士研究生，从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wangboforehead@163.com
*通信作者：罗海玲，教授，博士生导师，E-mail: luohailing@cau.edu.cn

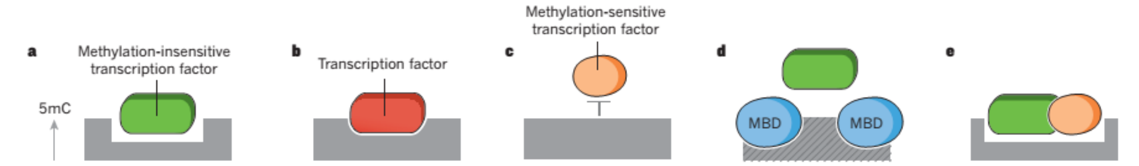
会通过影响DNA甲基化进而影响肌肉相关基因的表达，并有可能引起相应的生理状态发生变化。因而，通过探究DNA甲基化与肌肉发育的关系，有利于人们认识肌肉的发育过程及营养对肌肉发育的调控作用。

1 DNA甲基化和去甲基化机制

1.1 DNA甲基化作用机制

多项研究证实，DNA甲基化对哺乳动物是一种非常重要的表观修饰：如X染色体的失活[11]、基因印记[12]、沉默转座子等基因组原件从而保证基因组的稳定性[13]，改变机体众多基因的转录水平等过程均有DNA甲基化参与调控[14-15]。其中对DNA甲基化调控基因表达水平的机制是关注最多的。早期研究表明，通过DNA甲基化抑制转录因子与转录起始位点的结合，进而抑制相应基因的表达，这也得到了众多学者的认同。近年来，Schüebeler[16]又提出了DNA甲基化潜在的5种可能调控基因表达机制（图1）：a）甲基不敏感转录因子与转录起始位点结合后可以抑制该区域的DNA甲基化；b）转录因子通过一种特异的结合方式与甲基化的起始位点进行结合从而进行转录；c）甲基敏感转录因子由于起始区域的胞嘧啶发生甲基化而无法与该区域结合进而抑制转录；d）在胞嘧啶和鸟嘌呤含量高的起始位点区域（图中阴影表示），发生甲基化后易于与甲基化CpG结合结构域蛋白（methyl-CpG-binding domain protein，MBD）结合，从而间接的抑制转录因子与该位点的结合；e）甲基不敏感转录因子首先与起始位点结合，形成一个低甲基化的结合位点，之后甲基敏感转录因子再与该位点结合，从而保证正常的其实转录。在这5种模型中，c和d 2种模型相对较成熟，而其余3种仍有待进一步进行验证。

DNA甲基化可以发生在DNA链上多个区域，如在基因内和基因间均存在DNA甲基化现象，而不同的区域甲基化造成的影响也有所不同。研究表明，基因内的甲基化对转录的影响存在多样化特征，同时还可以调控可变剪切过程[17-18]；而基因间的DNA甲基化则会通过抑制增强子的方式从而抑制基因活性[19]。但非CpG位点的甲基化的功能目前尚不明确。因而，DNA甲基化修饰对调控机体基因表达具有重要的作用，进而对机体的组织发育过程产生影响。



5mC：5－甲基胞嘧啶 5-methylcytosine；MDB：甲基化CpG结合结构域蛋白 methyl-CpG-binding domain protein

图1　DNA甲基化与转录因子之间的相互作用关系

Fig.1　Interplay functions between DNA methylation and transcription-factors[16]

1.2　甲基转移酶和去甲基化酶

DNA甲基化与去甲基化在机体发育中是一个动态变化过程，具有一定的可塑性。在这个过程中，甲基化的形成、维持及甲基的移除，DNA甲基转移酶（DNA methyltransferases,DNMT）和去甲基化酶——10-11易位酶（ten-eleven translocation enzymes,TET）家族发挥着重要的作用。

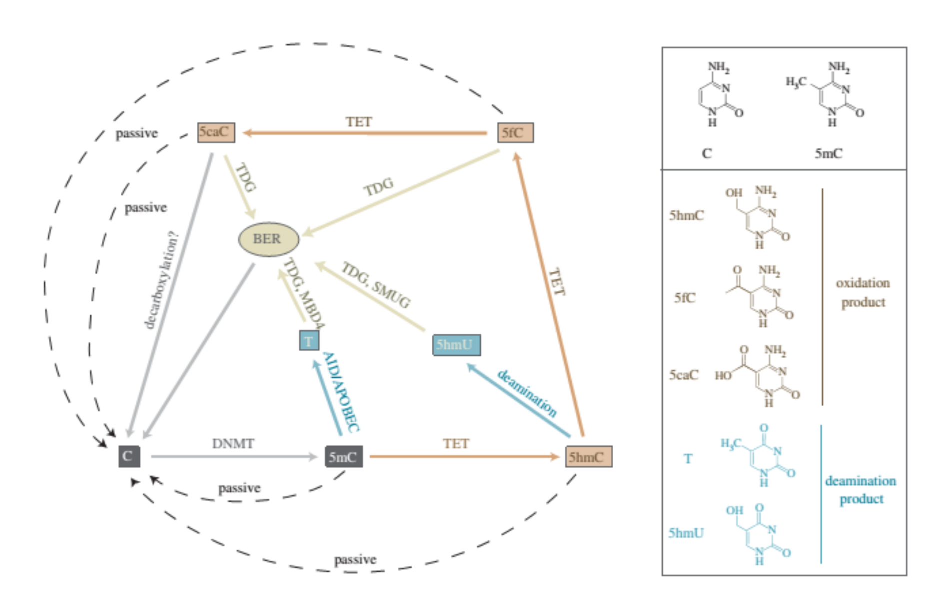
1.2.1　甲基转移酶家族

DNMT的主要作用在于，通过催化反应将S－腺苷甲硫氨酸（S-adenosylmethionine,SAM）的甲基转移到胞嘧啶的5号碳原子上，从而形成5mC[20]。DNMT家族主要有DNMT1、DNMT3a、DNMT3b及DNMT3L。其中DNMT1主要在有丝分裂过程中发挥作用，也即维持复制过程中新合成链的DNA甲基化模式与模板链相同。DNMT3a和DNMT3b具有高度的同源性，主要功能为形成新的DNA甲基化，但其作用的发育阶段又有其特异性。DNMT3b主要是胚胎早期发育形成新的DNA甲基化过程中发挥作用的酶，尤其是在着床过程中；DNMT3a主要在胚胎发育的后期及细胞分化过程中发挥作用[21]。另外，也有研究认为，DNMT3a和DNMT3b还承担着在维持子代全基因组甲基化模式过程中阻碍DNMT1发挥作用的功能[22]。DNMT3L功能为辅助DNMT3a和DNMT3b形成新的甲基化，并促进其作用到核染色质上[23]。由此可见，DNMT家族在形成DNA甲基化及维持甲基化状态的过程中起着重要的调控作用。

1.2.2　去甲基化调控通路

DNA甲基化修饰在机体中可以通过去甲基化途径进行消除。去甲基化过程中，TET家族（包括TET1、TET2和TET3 3种同型酶）具有重要的调控作用。在TET酶的作用下，首先将5mC羟化成5－羟甲基胞嘧啶（5-hydroxymethyl cytosine,5hmC），进一步将5hmC氧化成5－甲酰胞嘧啶（5-formylcytosine,5fC）和5－羧基胞嘧啶（5-carboxylcytosine,5caC）[24-25]，进而消除5mC，但形成的5caC能否通过去羧基反应生成胞嘧啶尚不明确。另外，TET催化反应的中间产物5fC和5caC还可以在胸腺嘧啶DNA糖苷酶（thymine DNA glycosylase,TDG）的作用下，依据碱基切除修复机制清除[26]。Seisenberger等[27]进一步提出了机体甲基清除路径的可能机制（图2），主要包括被动去甲基和主动去甲基2种方式，该路径中尚有部分过程需要进一步的验证，从而完善去甲基化通路。在机体中，DNA甲基化和去甲基化过程均有关键酶的参与进行调控，而其具体调控过程可能因发育的不同阶段而产生差异，从而进行精准地表观遗传修饰，维持机体的正常发育过程。而肌肉发生过程中，也存在着DNA甲基化和

去甲基化的调控，肌肉发生的关键调控基因也受到表观修饰的影响。



C：胞嘧啶 cytosine；5mC：5－甲基胞嘧啶 5-methylcytosine；5hmC：5－羟甲基胞嘧啶 5-hydroxymethyl cytosine；5fC：5－甲酰胞嘧啶 5-formylcytosine；5caC：5－羧基胞嘧啶 5-carboxylcytosine；T：胸腺嘧啶 thymine；5hmU：5－羟甲基尿嘧啶 5-hydroxymethyluracil；TET：10-11易位酶 ten-eleven translocation enzymes；TDG：胸腺嘧啶DNA糖苷酶 thymine DNA glycosylase；MBD4：甲基化CpG结合结构域蛋白4 methyl-CpG-binding domain protein 4；SMUG：单链选择性单功能尿嘧啶DNA糖基化酶 single-strand-selective monofunctional uracil-DNA glycosylase 1；AID/APOBEC：活化诱导的胞苷脱氨酶/载脂蛋白B mRNA编辑酶 activation-induced cytidine deaminase/apolipoprotein B mRNA-editing enzyme；DNMT：DNA甲基转移酶 DNA methyltransferases；BER：碱基切除修复 base excision repair。

实线为通过酶活性主动去甲基路径，虚线为DNA复制过程中缺乏甲基化状态的维持形成的被动去甲基路径。蓝色路径为去氨基作用，棕色为TET酶作用途径。Full line means actively processed by enzymatic activity, and dashed line means DNA methylation can be lost passively owing to a lack of maintenance at DNA replication. Deamination pathways were shown by blue lines, and function of TET enzyme family were shown by brown lines.

图2 DNA去甲基化路径

Fig.2 DNA demethylation pathways[27]

2 肌肉发生过程及DNA甲基化调控

2.1 调控肌肉发育的基因网络

骨骼肌起源于胚胎发育中胚层的祖细胞，该细胞群经过增殖、分化、融合及成熟后形成骨骼肌纤维。在肌肉形成过程中细胞经过胚胎祖细胞、卫星干细胞、定向卫星细胞、成肌细胞、肌细胞、肌小管/肌纤维阶段。伴随肌肉的形成，主要有2类调控因子参与：生肌调控

因子（主要包括Myf5、MyoD、Myf6及MyoG）和存在于生肌调控因子上游的Pax3和Pax7。

Pax3和Pax7属于保守序列的Pax家族，在调控组织分化和器官发育方面起着关键作用，且其表达不具有组织特异性。胚胎发育阶段，Pax3参与胚胎期轴下躯干肌的形成及层离过程，同时成肌祖细胞迁移到其他生肌部分（如四肢）也需要Pax3参与[28]。而表达*Pax*3的迁移细胞会形成表达*Myf*5和*MyoD*的细胞，进一步促进肌肉的生成，并形成卫星细胞池。形成胎肌时，*Pax*3表达量下调，*Pax*7成为调控所有成肌干细胞的主要因子。而在四肢中，起始时*Pax*7与*Pax*3均表达，通过基因追踪试验表明所有后期表达*Pax*7的细胞均起源于曾表达*Pax*3的细胞[29]，且Pax7也是维持成体干细胞群的重要因素。出生前，Pax7并非胎儿肌肉发育的必要条件，这可能是由于Pax3可以在一定程度上弥补Pax7的功能；出生后，Pax7却是肌肉发育的必要条件，这可能是由于出生后Pax7和Pax3的功能发生分化，分别承担着肌肉发生过程的不同调控功能。因而，Pax3和Pax7在肌肉发生过程中，相互依存，又彼此独立，共同调控肌肉的发生。

Myf5、Myf6及MyoD是生肌的决定因子，也是肌肉生成的必要因子，而MyoG作为一种分化因子，可与Myf6、MyoD共同调控肌小管分化为成熟肌纤维的过程[30]。*Myf*5是肌肉发育过程中最先表达的肌肉生成调控因子，是胚胎期骨骼肌细胞决定和分化的重要因子；*Myf*6不仅在骨骼肌细胞决定过程发挥作用，而且还在肌管分化过程被激活，进而参与肌管分化。*MyoD*的表达则在轴上和轴下生皮肌节*Myf*5表达之后，其初始表达活性依赖于*Myf*5及*Pax*3，之后可以通过反馈调节机制激活自身表达活性[31]。*MyoG*的表达受MyoD和Myf5的调控，且在分化过程中，MyoG和MyoD共同激活终端分化基因。随着成肌分化进行，编码承担结构和酶功能的肌肉蛋白如：α－肌动蛋白、肌钙蛋白、原肌球蛋白及肌酸激酶等的基因，其起始活性均被MyoG激活。故而生肌决定因子和分化因子共同促进成肌过程，且依靠不同的表达顺序和相互作用，精细的调控肌肉发生过程。

2.2 肌肉发生过程中的DNA甲基化与去甲基化

在肌肉发生过程中，对应的基因甲基化状态是一个动态的且复杂的变化过程。随着细胞分化程度的增加，整体的甲基化状态上升，然而细胞基因表达具有特异性，不同细胞在某些特殊位点的甲基化程度却在下降。这可能是由于整体基因甲基化程度的增加是为了降低细胞的多能性，而不同类型细胞基因表达随着机体发育具有特异性，特异位点的甲基化含量下降从而保证特异基因的正常表达。

2.2.1 DNA甲基化

不同的组织或细胞DNA甲基化模式有特异性，通过比较肌肉组织与它们之间的甲基化

模式有助于研究人员发现DNA甲基化调控肌肉发育的过程。通过比较骨骼肌与血细胞、精子、脑组织及脾脏细胞的甲基化模式，发现骨骼肌有178个特异的高甲基化的位点[32]。之后，Calvanese等[33]鉴定出47个在骨骼肌中显著低甲基化的基因，其中部分基因编码收缩蛋白如遮蔽蛋白、肌收缩蛋白、慢收缩阻凝蛋白等。由此可知，不同组织表现出不同的甲基化模式，从而适应其独特的结构和功能。Tsumagari等[34]通过比较肌肉细胞和30种非肌肉组织的甲基化模式，发现94%的差异甲基化位点在肌肉中均表现出低甲基化，且47%的低甲基化位点同样在成肌细胞或肌管细胞发现，而在成肌祖细胞中高甲基化的差异位点仅有3%。这说明肌肉的甲基化模式具有特异性，且不同阶段的生肌细胞其甲基化模式是动态变化的，从而调控不同阶段的基因表达，保证肌肉发育的正常进行。同时该研究也表明肌肉组织新形成的甲基化主要发生在成肌细胞前阶段，去甲基化过程发生在形成肌管细胞前后阶段，通过这种方式调控转录过程，且去甲基化过程中TET1和TET2在活化去甲基化过程及形成稳定的5hmC产物过程发挥重要作用。Tsumagari等[34]报道还指出*Pax*3基因无论在肌源性细胞还是成熟骨骼肌中均保持高甲基化水平，这可能影响肌肉发生过程中的细胞迁移。然而，Miyata等[35]在研究肌肉发生过程中甲基化状态时发现，从成肌细胞到肌管细胞阶段基因组的甲基化水平有少量的改变，但却表现出显著性的上升；而且进一步分析发现这些显著高甲基化位点启动子区域基因（转录因子ID4和ZNF238）与肌肉收缩及其他肌肉发生过程相关。该结果与之前报道有所不同，可能是由于其使用的是Illumina公司的450K DNA甲基化微珠芯片，在测定的结果中未区分5mC和5hmC。通过这些研究发现，在肌肉发生过程中，处于不同分化阶段肌细胞其DNA甲基化具有特异性，这是一个动态变化的过程，同一阶段的DNA甲基化模式也不尽相同，仍需进一步的验证。此外，随着生肌过程的进行，特异位点发生DNA去甲基化从而保障该过程对应基因的正常表达，这方面的研究也吸引了越来越多学者的兴趣。关于DNA甲基化修饰产生的阶段，大多数学者均认为甲基化修饰变化更多发生在细胞命运决定阶段前，而在细胞发育成熟后仅有少量的修饰发生，但成熟后受外界环境因素刺激的影响目前鲜见报道。

2.2.2　DNA去甲基化

在肌肉发生过程中，不同分化阶段有不同的生肌调控因子参与，而这些因子的表达均与其DNA甲基化状态相关。研究表明，生肌调控因子Myf5/Myf6的110 kb的增强子区域有大量的增强子元件，Carrió等[36]通过比较胚胎干细胞、骨骼肌干细胞、成肌细胞及肌管细胞该区域发现，胚胎干细胞该区域均表现出高甲基化，而骨骼肌干细胞、成肌细胞及肌管细胞均表现出低甲基化，且这种低甲基化增加了*Myf*5基因表达量，同时也证实了DNA甲基化程度

在细胞分化阶段调控Myf5增强子具有特异性，主要调控肌肉发生过程。*MyoD*是肌肉发生过程中的关键基因，其功能的发挥也与其甲基化状态相关。Brunk等[10]研究发现，在MyoD远端增强子区域所有的肌源性细胞均未甲基化，而在非肌肉细胞和组织（肝脏、心脏、脑等）中平均甲基化水平高达50%；研究还指出，MyoD远端增强子的甲基化虽然并不会直接阻止胚胎MyoD的活性，但保持去甲基化状态可能是为了产生特异的发育信号需要，从而使增强子对进一步的传导信号产生反应，从而激活*MyoD*基因。MyoG的活性也与甲基化状态密切相关。Lucarelli等[37]研究表明，MyoG在分化阶段肌细胞中的表达依赖于低甲基化状态，但在非肌肉组织（如脾脏、脑）以及增殖期的肌管细胞中均处于甲基化状态；而增殖期的肌管细胞使用甲基化抑制剂处理后，*MyoG*的表达则因甲基化水平降低而会增加。MyoG启动子区域需要在去甲基化状态下才能与转录因子结合，而在甲基化状态时MBD则与启动子区域结合阻止其正常转录[38]。近年来，也有研究发现在肌源性细胞的非CpG区域也存在甲基化现象，同样也存在去甲基化现象，但是关于该区域的甲基化状态对肌肉发生过程的调控尚不明确，有待进一步探讨。

2.2.3　DNMT和TET在肌肉发生过程中作用

肌肉发生过程中，DNMT和TET的活性对理解甲基化和去甲基化过程也有重要作用，同时也是保证机体正常发育的重要条件。DNMT和TET在由于其功能的特异性，在机体发育过程中也表现出不同的表达特性。DNMT1在肌源性细胞分化过程中，其表达水平下调，这也与其功能相对应。通过基因敲除试验证实，DNMT家族也是机体正常发育必须的，敲除*DNMT*1的胚胎甲基化水平下降约70%，且胚胎不能正常发育[39]；胚胎期敲除*DNMT*3*a*的小鼠存活期仅为4周，而敲除*DNMT*3*b*的小鼠则不能存活[40]，这就表明DNA甲基化是发育必须的。Dawlaty等[41]通过敲除TET家族对应基因，发现整体的5mC水平增加，也即甲基化水平程度增加；进一步分析高甲基化的启动子与相应下调的表达基因，表明表达下调的基因主要参与胚胎发育和分化，并显著的富集于骨骼肌发育通路。由此可见，DNMT和TET可以通过影响甲基化和去甲基化状态，调控基因表达，进而影响正常的发育过程，生肌过程也离不开二者的共同参与。

3　营养物质对肌肉DNA甲基化的影响

组织或细胞的发育离不开营养物质的供应，因而营养物质对发育过程具有重要的调控作用。近年来，关于营养物质通过表观遗传修饰调控机体发育的研究逐渐增多，尤其是在胚胎发育及断奶前这一阶段，如母体蛋白水平、高脂饲粮、妊娠期营养不平衡、过度采食等均会通过影响DNA甲基化水平造成子代发育不正常，并易患如糖尿病、肥胖症、高血压等疾病[42]。

但是关于营养物质对肌肉发生过程中的DNA甲基化修饰的研究相对较少。在DNA甲基化过程中，甲基供体可由叶酸、蛋氨酸、胆碱、甜菜碱等营养物质作为前提物质提供，进而参与DNA甲基化水平调控；该过程还需要ATP的参与，营养物质在代谢过程中会产生ATP，也有可能影响甲基化过程。在去甲基化过程中，TET在参与去甲基化过程中需要三羧酸循环中间产物α－酮戊二酸参与。因而营养物质可能通过改变细胞代谢途径进而影响DNA甲基化过程。研究表明，在妊娠期蛋白限饲，可能会通过DNA甲基化修饰影响子代肌肉的氧化磷酸化，并造成肌肉功能紊乱[43]。在人类的健康研究中指出，短期大量摄入脂肪，肌肉的*DNMT*3*a*和*DNMT*1的表达量却显著升高，DNA甲基化模式也有较大的改变，且这种改变的可塑性较差[44]。这表明成熟的肌细胞其甲基化状态受营养调控的影响较大，并且这种影响具有较长的持续性。Oster等[45]研究表明给妊娠期猪添加甲基供体如蛋氨酸、叶酸、胆碱、维生素B_6等，能够调控子代肌肉胰岛素样生长因子途径，提高子代初生重，同时也证实了子代的这种改变在肌肉中受日粮刺激的可塑性较差，可以长时间的作用于子代发育。肌肉发育作为机体发育的一个重要组成部分，受营养物质的影响较大，而目前关于营养物质通过DNA甲基化途径对肌肉发育造成的影响尚存在众多未知，这方面的研究将有助于深入探究营养对肌肉发育的影响，从而更好的调控肌肉发育。

4 小 结

肌肉发育过程中，DNA甲基化具有重要的调控作用。在甲基转移酶和去甲基化酶的催化下，不同生肌阶段细胞特异位点通过合理水平的DNA甲基化修饰，可以保证该过程重要基因表达的时间和空间的特异性，维持正常的生肌过程。但由于肌肉发育中的DNA甲基化水平是一个复杂的动态过程，目前研究尚不完善，如生肌细胞分化过程中刺激产生甲基化和去甲基化的因子或信号，非CpG位点的甲基化对肌肉发育调控的作用，营养物质通过DNA甲基化调控肌肉发育等，均有待深入研究。而探究肌肉发育过程的表观修饰，有助于进一步精确的掌握肌肉发育的调控机制，对动物健康生长发育及提高产肉量等也有促进作用。

参考文献：

[1] BIRD A P,WOLFFE A P.Methylation-induced repression-Belts,braces,and chromatin[J].Cell,1999,99(5):451–454.

[2] JENUWEIN T,ALLIS C D.Translating the histone code[J].Science,2001,293(5532):1074–1080.

[3] AHMAD K,HENIKOFF S.Histone H3 variants specify modes of chromatin assembly[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of

America,2002,99(Suppl 4):16477–16484.

[4] SHEARDOWN S A,DUTHIE S M,JOHNSTON C M,et al.Stabilization of *Xist* RNA mediates initiation of X chromosome inactivation[J].Cell,1997,91(1):99–107.

[5] HOLLIDAY R,PUGH J E.DNA modification mechanisms and gene activity during development[J].Science,1975,187(4173):226–232.

[6] RIGGS A D.X-inactivation,differentiation,and DNA methylation[J].Cytogenetic and Genome Research,1975,14(1):9–25.

[7] FENG S H,JACOBSEN S E,REIK W.Epigenetic reprogramming in plant and animal development[J].Science,2010,330(6004):622–627.

[8] ILLINGWORTH R S,BIRD A P.CpG islands -'A rough guide'[J].FEBS Letters,2009,583(11):1713–1720.

[9] BOGDANOVIĆ O,VEENSTRA G J C.DNA methylation and methyl-CpG binding proteins:developmental requirements and function[J].Chromosoma,2009,118(5):549–565.

[10] BRUNK B P,GOLDHAMER D J,EMERSON C J.Regulated demethylation of the *MyoD* distal enhancer during skeletal myogenesis[J].Development Biology,1996,177(2):490–503.

[11] GARTLER S M,RIGGS A D.Mammalian X-chromosome inactivation[J].Annual Review of Genetics,1983,17(1):155–190.

[12] SWAIN J L,STEWART T A,LEDER P.Parental legacy determines methylation and expression of an autosomal transgene: a molecular mechanism for parental imprinting[J].Cell,1987,50(5):719–727.

[13] GAUDET F,HODGSON J G,EDEN A,et al.Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation[J].Science,2003,300(5618):489–492.

[14] GELFMAN S,COHEN N,YEARIM A,et al.DNA-methylation effect on cotranscriptional splicing is dependent on GC architecture of the exon-intron structure[J].Genome Research,2013,23(5):789–799.

[15] YANG X J,HAN H,DE CARVALHO D D,et al.Gene body methylation can alter gene expression and is a therapeutic target in cancer[J].Cancer Cell,2014,26(4):577–590.

[16] SCHÜEBELER D.Function and information content of DNA methylation[J].Nature,2015,517(7534):321–326.

[17] MAUNAKEA A K,CHEPELEV I,CUI K R,et al.Intragenic DNA methylation modulates

alternative splicing by recruiting MeCP2 to promote exon recognition[J].Cell Research,2013,23(11):1256–1269.

[18] SATI S,TANWAR V S,KUMAR K A,et al.High resolution methylome map of rat indicates role of intragenic DNA methylation in identification of coding region[J].PLoS One,2012,7(2):e31621.

[19] WEBER M,HELLMANN I,STADLER M B,et al.Distribution,silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome[J].Nature Genetic,2007,39(4):457–466.

[20] CHRISTMAN J K.5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation:mechanistic studies and their implications for cancer therapy[J].Oncogene,2002,21(35):5483–5495.

[21] BORGEL J,GUIBERT S,LI Y F,et al.Targets and dynamics of promoter DNA methylation during early mouse development[J].Nature Genetics,2010,42(12):1093–1100.

[22] JACKSON M,KRASSOWSKA A,GILBERT N,et al.Severe global DNA hypomethylation blocks differentiation and induces histone hyperacetylation in embryonic stem cells[J].Molecular and Cellular Biology,2004,24(20):8862–8871.

[23] JIA D,JURKOWSKA R Z,ZHANG X,et al.Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for *de novo* DNA methylation[J].Nature,2007,449(7159):213–217.

[24] HE Y F,LI B Z,LI Z,et al.Tet-Mediated formation of 5-carboxylcytosine and its excision by TDG in mammalian DNA[J].Science,2011,333(6047):1303–1307.

[25] ITO S,SHEN L,DAI Q,et al.Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine[J].Science,2011,333(6047):1300–1303.

[26] MAITI A,DROHAT A C.Thymine DNA glycosylase can rapidly excise 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine potential implications for active demethylation of CpG sites[J].Journal of Biological Chemistry,2011,286(41):35334–35338.

[27] SEISENBERGER S,PEAT J R,HORE T A,et al.Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle:building and breaking epigenetic barriers[J].Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences,2013,368(1609):20110330.

[28] TAJBAKHSH S,BUCKINGHAM M.The birth of muscle progenitor cells in the mouse:spatiotemporal considerations[J].Current Topics in Developmental

Biology,2000,48:225–268.

[29] HUTCHESON D A,ZHAO J,MERRELL A,et al.Embryonic and fetal limb myogenic cells are derived from developmentally distinct progenitors and have different requirements for β-catenin[J].Genes & Development,2009,23(8):997–1013.

[30] MONCAUT N,CROSS J W,SILIGAN C,et al.Musculin and TCF21 coordinate the maintenance of myogenic regulatory factor expression levels during mouse craniofacial development[J].Development,2012,139(5):958–967.

[31] TAJBAKHSH S,ROCANCOURT D,COSSU G,et al.Redefining the genetic hierarchies controlling skeletal myogenesis:*Pax*-3 and *Myf*-5 act upstream of *MyoD*[J].Cell,1997,89(1):127–138.

[32] ILLINGWORTH R,KERR A,DESOUSA D,et al.A novel CpG island set identifies tissue-specific methylation at developmental gene loci[J].PLoS Biology,2008,6(1):e22.

[33] CALVANESE V,FERNÁNDEZ A F,URDINGUIO R G,et al.A promoter DNA demethylation landscape of human hematopoietic differentiation[J].Nucleic Acids Research,2012,40(1):116–131.

[34] TSUMAGARI K,BARIBAULT C,TERRAGNI J,et al.Early de novo DNA methylation and prolonged demethylation in the muscle lineage[J].Epigenetics,2013,8(3):317–332.

[35] MIYATA K,MIYATA T,NAKABAYASHI K,et al.DNA methylation analysis of human myoblasts during *in vitro* myogenic differentiation:de novo methylation of promoters of muscle-related genes and its involvement in transcriptional down-regulation[J].Human Molecular Genetics,2014,24(2):410–423.

[36] CARRIÓ E,DIEZ-VILLANUEVA A,LOIS S,et al.Deconstruction of DNA methylation patterns during myogenesis reveals specific epigenetic events in the establishment of the skeletal muscle lineage[J].Stem Cells,2015,33(6):2025–2036.

[37] LUCARELLI M,FUSO A,STROM R,et al.The dynamics of *Myogenin* site-specific demethylation is strongly correlated with its expression and with muscle differentiation[J].Journal of Biological Chemistry,2001,276(10):7500–7506.

[38] PALACIOS D,SUMMERBELL D,RIGBY P W J,et al.Interplay between DNA Methylation and transcription factor availability:implications for developmental activation of the mouse *Myogenin* gene[J].Molecular and Cellular Biology,2010,30(15):3805–3815.

[39] LI E,BESTOR T H,JAENISCH R.Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality[J].Cell,1992,69(6):915–926.

[40] OKANO M,BELL D W,HABER D A,et al.DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development[J].Cell,1999,99(3):247–257.

[41] DAWLATY M M,BREILING A,LE T,et al.Loss of TET enzymes compromises proper differentiation of embryonic stem cells[J].Developmental Cell,2014,29(1):102–111.

[42] JIMÉNEZ-CHILLARÓN J C,DÍAZ R,MARTÍNEZ D,et al.The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health[J].Biochimie,2012,94(11):2242–2263.

[43] ZENG Y,GU P Q,LIU K S,et al.Maternal protein restriction in rats leads to reduced PGC-1α expression via altered DNA methylation in skeletal muscle[J].Molecular Medicine Reports,2012,7(1):306–312.

[44] JACOBSEN S C,BRØNS C,BORK-JENSEN J,et al.Effects of short-term high-fat overfeeding on genome-wide DNA methylation in the skeletal muscle of healthy young men[J].Diabetologia,2012,55(12):3341–3349.

[45] OSTER M,NUCHCHANART W,TRAKOOLJUL N,et al.Methylating micronutrient supplementation during pregnancy influences foetal hepatic gene expression and IGF signalling and increases foetal weight[J].European Journal of Nutrition,2016,55(4):1717–1727.

Advances on Regulation of DNA Methylation and Demethylation on Muscle Development

WANG Bo LUO Hailing*

(State Key Laboratory of Animal Nutrition, *College of Animal Science and Technology*, *China Agricultural University*, *Beijing* 100193, *China*)

Abstract: Muscle development is a complicated biology process, which has remained largely unclear about its regulatory mechanism. The regulatory function in terms of epigenetic modifications on muscle development have turned into hot topic, and it was proved that DNA methylation and demethylation played a critical modulation role during myogenesis. Muscle stem cell specific-region modified by DNA methylation to regulate the myogenic process involves in affect the key regulatory genes expression during muscle early development. This paper focused

on the dynamic process of DNA methylation and demethylation during different stages of myogenesis, important methyltransferases and demethylases, effects of nutrition on muscle development by DNA methylation.

Key words: DNA methylation; demethylation; myogenesis; enzymes; nutrient

---

*Corresponding author, professor, E-mail: luohailing@cau.edu.cn (责任编辑　田艳明)